

Xpert[®] HBV Viral Load

REF GXHBV-VL-CE-10

Upute za upotrebu

CE 2797 **IVD**

Izjave o zaštitnom znaku, patentima i vlasničkim pravima

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2018-2023 Cepheid.

Cepheid®, logotip Cepheid, GeneXpert® i Xpert® zaštitni su znakovi društva Cepheid, registriranog u SAD-u i drugim državama.

Svi ostali zaštitni znakovi vlasništvo su svojih odnosnih vlasnika.

KUPNJOM OVOG PROIZVODA KUPCU SE DODJELJUJE NEPRENOSIVO PRAVO NA NJEGOVU UPOTREBU U SKLADU S OVIM UPUTAMA ZA UPOTREBU. NIKAKVA SE DRUGA PRAVA NE DODJELJUJU IZRIČITO, IMPLICITNO ILI PREKLIZIJOM. NADALJE, KUPNJOM OVOG PROIZVODA NE DODJELJUJU SE NIKAKVA PRAVA NA PREPRODAJU.

© 2018-2023 Cepheid.

Xpert[®] HBV Viral Load

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

1 Zaštićeni naziv

Xpert[®] HBV Viral Load

2 Uobičajeni ili ustaljeni naziv

Xpert HBV VL

3 Namjena

Test Xpert[®] HBV virusnog opterećenja (VL) društva Cepheid *in vitro* je test amplifikacije nukleinske kiseline namijenjen kvantifikaciji DNK virusa hepatitisa B (HBV) u ljudskom serumu ili plazmi (EDTA) od pojedinaca kronično zaraženih HBV-om upotrebom automatiziranih sustava GeneXpert[®].

Test je namijenjen za upotrebu zajedno s kliničkom prezentacijom i drugim laboratorijskim markerima kao indikator za prognozu bolesti i upotrebu kao pomoć u procjeni virusne reakcije na antiretrovirusno liječenje izmjereno promjenama u razini DNK virusa HBV u plazmi ili serumu.

Test nije namijenjen za upotrebu kao test probira darivatelja na HBV ili za upotrebu kao dijagnostički test za potvrdu prisutnosti infekcije HBV-om.

4 Sažetak i objašnjenje

Virus hepatitisa B mali je DNK virus obavljen ovojnicom iz porodice Hepadnaviridae i odgovoran je za akutni i kronični hepatitis HBV. Virus ima mali kružni DNK genom koji je djelomično dvolančani, djelomično jednolančani i ima promjer od 42 nm. HBV sadržava brojne antigenske sastavnice koje uključuju površinski antigen hepatitisa B (HBsAg), jezgri antigen hepatitisa B (HBcAg) i e antigen hepatitisa B (HBeAg). HBV se prenosi perkutanom ili mukoznom izlaganjem krvi ili tjelesnim tekućinama zaražene osobe, sa zaražene majke na njezino novorođenče, bliskim dodirima u kućanstvu, transfuzijom krvi koja nije pregledana na prisutnost virusa ili nesigurnim injekcijama u zdravstvenom okruženju, konzumiranjem droga ubrizgavanjem i spolnim kontaktom sa zaraženom osobom.

Kronični hepatitis B (CHB) može biti prisutan kao CHB pozitivan na e antigen hepatitisa B (HBeAg) ili kao CHB negativan na HBeAg. Seroprevalencija za HBsAg specifična za dob značajno se razlikuje ovisno o zemljopisnom području, uz najvišu prevalenciju (> 5 %) u supsaharskoj Africi, Istočnoj Aziji, nekim dijelovima balkanskih područja, pacifičkim otocima i amazonskom porječju Južne Amerike. Prevalencija ispod 2 % vidljiva je u područjima poput središnje Latinske Amerike, Sjeverne Amerike i Zapadne Europe. Ukupno, gotovo polovica svjetske populacije živi na područjima visoke raširenosti.¹ Pobol i smrtnost od CHB-a povezani su s postojanošću virusne replikacije i razvoja bolesti do ciroze i/ili hepatocelularnog karcinoma (HCC).² Smrtnost od virusnog hepatitisa s vremenom se povećala i nastavit će rasti ako ljudi ne dobiju dijagnozu i liječenje.³

Cjepivo protiv HBV-a dostupno je za dojenčad i značajno je smanjilo broj novih kroničnih infekcija, no pokrivenost iznosi samo 39%.³ Godine 2015. 3,5 % svjetske populacije živjelo je s kroničnom infekcijom HBV-om, pri čemu su zapadni Pacifik i afrička područja bila najteže zahvaćena područja.³ Samo 9 % osoba s HBV-om znalo je svoju dijagnozu, a od onih dijagnosticiranih samo je 8 % primalo terapiju.³ Analizi nukleozida i nukleotida, kao što su tenofovir i entekavir, preporučuju se za osobe koje ispunjavaju uvjete za terapiju budući da su ti antivirusni agensi učinkoviti u suzbijanju replikacije HBV-a, sprečavajući napredovanje bolesti u cirozu te smanjujući broj smrtnih slučajeva povezanih s bolesti jetre.¹ Terapija za HBV nastavlja se doživotno.¹

5 Načelo postupka

Test Xpert® HBV VL automatizirani je test za kvantitativno otkrivanje virusa hepatitisa B. Test se provodi na sustavima instrumenta Cepheid GeneXpert i GeneXpert Infinity.

Sustavi instrumenta GeneXpert automatiziraju i integriraju pročišćavanje uzorka, amplifikaciju nukleinske kiseline te otkrivanje ciljne sekvence u jednostavnim ili složenim uzorcima pomoću testova PCR u stvarnom vremenu. Sustavi se sastoje od instrumenta, osobnog računala i unaprijed instaliranog softvera za pokretanje testova i pregled rezultata. Sa sustavima je potrebno upotrebljavati uloške GeneXpert za jednokratnu upotrebu koji primaju PCR reagense i provode postupke pročišćavanja i PCR-a. Budući da su ulošci autonomni, križna kontaminacija između uzoraka svedena je na minimum. Čitav opis sustava potražite u odgovarajućem *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Dx* i/ili *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Infinity*.

Test Xpert® HBV VL uključuje reagense za otkrivanje DNK virusa HBV u uzorcima, kao i dvije unutarnje kontrole za kvantifikaciju DNK virusa HBV. Unutarnje kontrole ujedno se koriste za odgovarajuću obradu cilja i praćenje prisutnosti inhibitora u reakcijama PCR. Kontrola provjere sonde (PCC) provjerava rehidraciju reagensa, napunjenost epruvete za PCR u ulošku, cjelovitost sonde i stabilnost boje.

Test je standardiziran u skladu sa četvrtim međunarodnim standardom Svjetske zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO) za DNK virusa HBV za tehnologije amplifikacije nukleinske kiseline (NIBSC oznaka: 10/266).⁴

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Isporučeni materijali

Komplet testa HBV VL sadrži dovoljno reagensa za obradu 10 uzoraka i/ili uzoraka kontrole kvalitete. Komplet sadrži sljedeće:

| | |
|--|--|
| Ulošci HBV VL s ugrađenim reakcijskim epruvetama | 10 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Kuglica 1, kuglica 2 i kuglica 3 (osušene zamrzavanjem) • Reagens za lizu (gvanidinij-tiocijanat) • Reagens za ispiranje • Reagens za eluiranje • Reagens za povezivanje • Reagens proteinaze-K | po 1 od svake po ulošku 1,7 ml po ulošku 0,5 ml po ulošku 1,5 ml po ulošku 1,5 ml po ulošku 0,48 ml po ulošku |
| Jednokratne prijenosne pipete od 1 ml | 10 po kompletu |
| CD | 1 po kompletu |
| <ul style="list-style-type: none"> • Datoteku definicije analize (ADF) • Upute za uvoz ADF-a u softver GeneXpert i Infinity • Upute za upotrebu (Uputa) | |

Bilješka

Sigurnosno-tehnički listovi (SDS) dostupni su na stranici www.cepheid.com ili www.cepheidinternational.com pod karticom **PODRŠKA (SUPPORT)**.

Bilješka

Goveđi serumski albumin (BSA) u kuglicama u ovom proizvodu proizveden je isključivo od goveđe plazme koja potječe iz Sjedinjenih Država. Životinje nisu hranjene proteinima preživača ili nekih drugih životinja; životinje su podvrgnute testiranju prije i nakon smrti. Tijekom obrade nije bilo miješanja materijala s drugim životinjskim materijalima.

7 Čuvanje i rukovanje

- Čuvajte uloške testa Xpert® HBV VL na 2 – 35 °C do isteka roka valjanosti navedenog na etiketi.
- Prije upotrebe pustite da ulošci dostignu temperaturu ako su čuvani na hladnome mjestu.
- Nemojte upotrebljavati uloške kojima je istekao rok valjanosti.
- Ne otvarajte poklopac uloška dok niste spremni provesti testiranje.
- Nemojte upotrebljavati uložak na kojemu je došlo do curenja.

8 Potrebni materijali koji nisu isporučeni

- Sustav instrumenta GeneXpert® Dx ili sustav instrumenta GeneXpert® Infinity (kataloški broj ovisi o konfiguraciji): Instrument GeneXpert, računalo sa zakonom zaštićenim softverom GeneXpert verzije 4.7b ili novije (sustavi GeneXpert Dx) ili Xpertise 6.4b ili noviji (Infinity-80/Infinity-48s), čitač crtičnih kodova i odgovarajući Korisnički priručnik sustava instrumenta GeneXpert.
- Pisač: ako je potreban pisač, obratite se Tehničkoj podršci društva Cepheid da biste dogovorili kupnju preporučenog pisača.
- Izbjeljivač ili natrijev hipoklorit
- Denaturirani etanol

9 Upozorenja i mjere opreza

9.1 Općenito

- Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Sa svim biološkim uzorcima, uključujući iskorištene uloške, postupajte kao da mogu prenijeti uzročnike zaraznih bolesti. Budući da često nije moguće znati koji bi biološki uzorci mogli biti zarazni, sa svim biološkim uzorcima treba postupati primjenjujući standardne mjere opreza. Smjernice za rukovanje uzorkom dostupne su u Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti⁵ i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde u SAD-u.⁶
- Preporučuju se dobre laboratorijske prakse, uključujući promjenu rukavica između rukovanja uzorcima radi izbjegavanja kontaminacije uzoraka ili reagensa.
- Slijedite sigurnosne procedure svoje ustanove za rad s kemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Nemojte zamjenjivati reagens testu Xpert HBV VL drugim reagensima.
- Nemojte otvarati poklopac uloška testa Xpert HBV VL dok niste spremni dodati uzorak.
- Nemojte upotrebljavati uložak koji vam je ispao nakon što ste ga izvadili iz pakiranja.
- Nemojte tresti uložak. Ako protresete uložak nakon otvaranja poklopca uloška ili vam ispadne, možete dobiti nevažne rezultate.
- Nemojte upotrebljavati uložak s oštećenom reakcijskom epruvetom.
- Nemojte prekrivati etiketu crtičnog koda na ulošku.
- Upotrijebite prienosnu pipetu ili preciznu pipetu za dodavanje uzorka u uložak. Nemojte ulijevati uzorak izravno iz uređaja za prikupljanje u uložak.
- Svaki uložak za jednokratnu upotrebu Xpert HBV VL koristi se za obradu jednog testa. Nemojte višekratno upotrebljavati uloške.
- Svaka jednokratna pipeta upotrebljava se za prijenos jednog uzorka. Nemojte višekratno upotrebljavati jednokratne pipete.
- Nosite čiste laboratorijske kute i rukavice. Promijenite rukavice između obrade svakog uzorka.
- U slučaju kontaminacije radne površine ili opreme uzorcima ili kontrolama dobro očistite kontaminirano područje svježe pripremljenom otopinom 0,5 %-tnog natrijevog hipoklorita (ili otopinom kućnog izbjeljivača s klorom razrijeđenog u omjeru 1:10). Nakon toga prebrišite površinu 70 %-tnim etanolom. Prije nastavka rada pustite da se radne površine potpuno osuše.
- Biološki uzorci, prienosni pribor i iskorišteni ulošci trebaju se smatrati sposobnima za prijenos uzročnika zaraznih bolesti te su potrebne standardne mjere opreza. Za pravilno odlaganje iskorištenih uložaka i neiskorištenih reagensa slijedite postupke za upravljanje otpadom svoje ustanove. Ti materijali mogu pokazivati značajke opasnog kemijskog otpada, za što su potrebni posebni nacionalni ili regionalni postupci za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne pružaju jasne upute o pravilnom odlaganju, biološki uzorci i iskorišteni ulošci trebaju se odložiti prema smjernicama za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada Svjetske zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO).⁷

10 Kemijske opasnosti^{8,9}

Reagens za lizu (gvanidinij-tiocijanat)

- Oznaka opasnosti: UPOZORENJE
- Oznake upozorenja prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označavanja kemikalija Ujedinjenih naroda (UN GHS)

- Štetno ako se proguta
- Uzrokuje blago nadraživanje kože
- Uzrokuje nadraživanje očiju
- **Oznake obavijesti prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija Ujedinjenih naroda (UN GHS)**
 - **Prevenција**
 - Nakon rukovanja proizvodom temeljito oprati ruke.
 - **Reakcija**
 - Ako dođe do nadraživanja kože: Potražite savjet/liječničku pomoć.
 - U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: pažljivo ispirite vodom nekoliko minuta. Skinite kontaktne leće, ako ih nosite i ako se lako skidaju. Nastaviti ispiranje.
 - Ako nadraživanje oka ne prestaje: Potražite savjet/liječničku pomoć.
 - Ako se ne osjećate dobro, nazovite CENTAR ZA TROVANJA ili liječnika.

11 Prikupljanje, transport i čuvanje uzoraka

Punu krv treba prikupiti u epruvete koje sadrže K₂-EDTA, epruvete za prikupljanje PPT-EDTA ili seruma i centrifugirati kako bi se razdvojila plazma/serum i crvene krvne stanice prema uputama proizvođača.

- Za test Xpert HBV VL potrebno je najmanje 0,6 ml plazme ili seruma. Ako upotrebljavate prijenosnu pipetu koja je uključena u komplet, pipeta se mora napuniti plazmom ili serumom do četvrte oznake (1,0 ml). Kao druga mogućnost, ako upotrebljavate preciznu pipetu, potrebno je najmanje 0,6 ml plazme ili seruma. Pogledajte upute u Odjeljak 12.2, 1. mogućnost, odnosno 2. mogućnost.
- Puna krv može se čuvati na 2 – 35 °C do 24 sata ili na 2 – 8 °C do 3 dana prije pripreme plazme/seruma. Centrifugiranje treba provesti u skladu s uputama proizvođača.
- Nakon centrifugiranja i razdvajanja plazma i serum mogu se čuvati na 2 – 35 °C do 24 sata ili na 2 – 8 °C do 7 dana prije testiranja.
- Uzorci plazme i seruma stabilni su zamrznuti (– 80 do – 20 °C) do 6 tjedana.
- Uzorci plazme i seruma stabilni su do tri ciklusa zamrzavanja/odmrzavanja.
- Uzorke plazme i seruma treba odmrznuti i ostaviti da postignu sobnu temperaturu prije prijenosa u uložak.
- Prijevoz pune krvi, uzoraka plazme ili seruma mora biti sukladan s državnim, saveznim i lokalnim propisima za prijevoz etioloških agensa.

12 Postupak

12.1 Priprema uzorka

Bilješka Pokrenite test u roku od četiri sata nakon dodavanja uzorka u uložak.

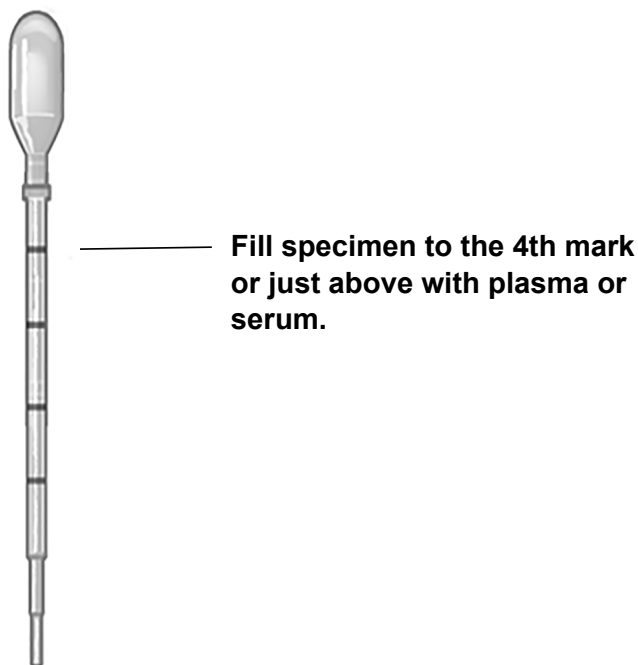
1. Nakon centrifugiranja uzorka pune krvi plazma se može pipetirati izravno u uložak. Dovoljna količina od ključne je važnosti za dobivanje valjanih rezultata testa (pogledajte upute u Odjeljak 12.2. Priprema uložka).
2. Ako upotrebljavate zamrznute uzorke, prije upotrebe ih stavite na sobnu temperaturu (20 – 35 °C) dok se potpuno ne odmrznu i postignu sobnu temperaturu.
3. Uzorke plazme i seruma koji se čuvaju na 2 – 8 °C prije upotrebe treba izvaditi iz hladnjaka i pustiti da postignu sobnu temperaturu.
4. Uzorke plazme koji se čuvaju na 2 – 8 °C ili koji su zamrznuti te odmrznuti prije upotrebe treba promiješati u vrtložnoj miješalici deset sekundi. Ako je uzorak mutan, razbistrite ga brzim centrifugiranjem.

12.2 Priprema uložka

1. Nosite jednokratne zaštitne rukavice.
2. Prije upotrebe pustite da ulošci dostignu temperaturu ako su čuvani na hladnome mjestu.

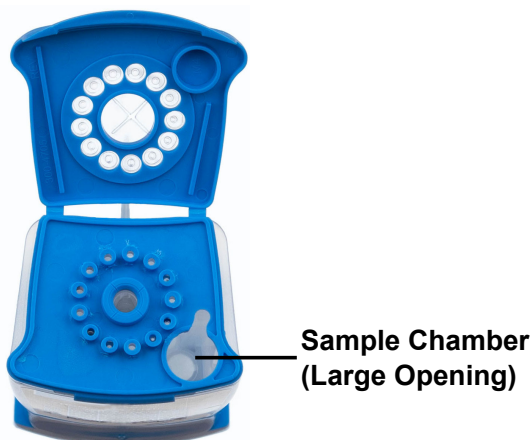
3. Provjerite ima li na ulošku oštećenja. Ako je oštećen, nemojte ga koristiti.
4. Označite uložak oznakom uzorka.
5. Otvorite poklopac uloška.
6. Dodajte uzorak u uložak.
 - **1. mogućnost:** ako upotrebljavate prijenosnu pipetu koja je uključena u komplet (pogledajte Slika 1), napunite je do četvrte oznake (1,0 ml) ili neznatno iznad toga plazmom ili serumom iz epruvete za prikupljanje. Ispraznite sadržaj pipete u komoru za uzorak u ulošku (pogledajte Slika 2).
 - **2. mogućnost:** ako upotrebljavate preciznu pipetu, prenesite 0,6 ml plazme ili seruma iz epruvete za prikupljanje u komoru za uzorak u ulošku (pogledajte Slika 2).

Bilješka Nemojte uklanjati tanku plastičnu foliju koja prekriva unutarnji prsten 13 otvora na ulošku.



Slika 1. Prijenosna pipeta za test Xpert HBV VL

7. Zatvorite poklopac uloška. Pobrinite se da poklopac dobro škljocne na svoje mjesto.



Slika 2. Uložak Xpert HBV VL (pogled odozgo)

12.3 Pokretanje testa

Važno Prije pokretanja testa pobrinite se da je datoteka definicije analize Xpert HBV VL uvezena u softver.

Ovaj odjeljak navodi osnovne korake pokretanja testa. Detaljne upute potražite u *Korisničkom priručniku sustava GeneXpert Dx* ili *Korisničkom priručniku sustava GeneXpert Infinity*, ovisno o modelu instrumenta koji se upotrebljava.

Bilješka Koraci koje je potrebno slijediti mogu se razlikovati ako je administrator sustava promijenio zadani tijek rada sustava.

1. Uključite sustav instrumenta GeneXpert:

- Ako upotrebljavate instrument GeneXpert Dx, prvo uključite instrument GeneXpert Dx, a zatim uključite računalo. Softver GeneXpert Dx pokrenut će se automatski ili će biti potrebno dvaput kliknuti na ikonu prečaca za softver GeneXpert Dx na radnoj površini sustava Windows®.

ili

- Ako upotrebljavate instrument GeneXpert Infinity, uključite ga. Softver GeneXpert pokrenut će se automatski ili će biti potrebno dvaput kliknuti na ikonu prečaca za softver Xpertise na radnoj površini sustava Windows®.

2. Prijavite se u softver sustava instrumenta GeneXpert svojim korisničkim imenom i lozinkom.

3. U prozoru sustava GeneXpert kliknite **Izradi test (Create test)** (GeneXpert Dx) ili kliknite **Nalozi (Orders) i Izdaj nalog za test (Order Test)** (Infinity). Otvorit će se prozor **Izradi test (Create Test)**.

4. Očitajte ID bolesnika (Patient ID) (neobavezno). Ako upisujete ID bolesnika (Patient ID), pripazite da ga točno upišete. ID bolesnika (Patient ID) prikazuje se na lijevoj strani prozora Prikaz rezultata (View Results) i povezan je s rezultatima testa.

5. Očitajte ili upišite ID uzorka. Ako upisujete ID uzorka (Sample ID), pripazite da ga točno upišete. ID uzorka (Sample ID) prikazuje se na lijevoj strani prozora Prikaz rezultata (View Results) i povezan je s rezultatom testa.

6. Očitajte crtični kod na ulošku testa Xpert HBV VL. Pomoću informacija na crtičnom kodu softver će automatski ispuniti okvire za sljedeća polja: ID serije reagensa (Reagent Lot ID), Serijski broj uloška (Cartridge SN) i Rok valjanosti (Expiration Date).

Bilješka Ako nije moguće skenirati crtični kod na ulošku testa Xpert HBV VL, ponovite test s novim uloškom.

7. Kliknite **Pokreni test (Start test)** (GeneXpert Dx) ili **Pošalji (Submit)** (Infinity). U dijaloškom okviru koji se pojavi upišite svoju lozinku.

8. Za sustav GeneXpert Infinity stavite uložak na pokretnu traku. Uložak će se automatski napuniti, test će se pokrenuti, a iskorišteni uložak premjestiti u spremnik za otpad.

ili

Za instrument GeneXpert Dx:

- a) Otvorite vrata modula instrumenta dok trepti zeleno svjetlo i postavite uložak.
- b) Zatvorite vrata. Test se pokreće, a zeleno svjetlo prestaje treperiti. Kad test završi, svjetlo se gasi.
- c) Prije nego što otvorite vrata modula i izvadite uložak, pričekajte da sustav otključa vrata.
- d) Odložite iskorištene uloške u odgovarajuće spremnike za otpad od uzoraka u skladu sa standardnim praksama vaše ustanove.

13 Prikaz i ispis rezultata

Ovaj odsječak navodi osnovne korake za prikaz i ispis rezultata. Detaljnije upute o prikazu i ispisu rezultata potražite u *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Dx* ili *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Infinity*, ovisno o instrumentu koji se upotrebljava.

1. Za prikaz rezultata kliknite ikonu **Prikaz rezultata (View Results)**.

2. Nakon završetka testa kliknite gumb **Izvešće (Report)** u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** za prikaz i/ili izradu PDF datoteke s izvješćem.

14 Kontrola kvalitete

Svaki test uključuje prikladnost volumena uzorka (SVA), unutarnji visoki i niski kvantitativni standard (IQS-H i IQS-L), parametre specifične za seriju (LSP) i kontrolu provjere sonde (PCC).

- **Prikladnost volumena uzorka (SVA)** – osigurava da je uzorak ispravno dodan u uložak. SVA provjerava je li u komoru uložka dodan ispravan volumen uzorka. SVA zadovoljava ako ispunjava potvrđene kriterije za prihvaćanje. Ako SVA ne zadovolji, prikazat će se **Pogreška 2096 (Error 2096)** ako u uložak nije dodan uzorak ili **POGREŠKA 2097 (ERROR 2097)** ako je u uložak dodana nedovoljna količina uzorka. Sustav će spriječiti korisnika da nastavi s testom.
- **Unutarnji visoki i niski kvantitativni standard (IQS-H i IQS-L)** – IQS-H i IQS-L dva su linearizirana plazmida sa sekvencom koja nije povezana s HBV-om koja su uključena u svaki uložak i prolaze kroz cjelokupni proces testiranja. To su standardi koji se koriste za izračun koncentracije DNK virusa HBV u uzorku. Nadalje, IQS-H i IQS-L otkrivaju inhibiciju reakcije PCR u stvarnom vremenu povezanu s uzorkom, djelujući kao kontrole obrade uzorka. IQS-H i IQS-L zadovoljavaju ako ispunjavaju potvrđene kriterije za prihvaćanje.
- **Parametri specifični za seriju (LSP) za kvantifikaciju** – svaka serija kompleta ima ugrađen LSP izrađen od kalibracijskog panela za HBV, sljediv do četvrtog međunarodnog standarda Svjetske zdravstvene organizacije za HBV (NIBSC oznaka 10/266)⁴ te IQS-H i IQS-L. LSP-ovi su jedinstveni za seriju kompleta i koriste se za osiguravanje ispravne kvantifikacije.
- **Kontrola provjere sonde (PCC)** – prije početka reakcije PCR-a sustav instrumenta GeneXpert mjeri fluorescentni signal iz sonde s ciljem praćenja rehidracije kuglica, punjenja reakcijske epruvete, cjelovitosti sonde i stabilnosti boje. PCC zadovoljava ako fluorescentni signali ispunjavaju potvrđene kriterije za prihvaćanje.
- **Vanjske kontrole** – pridržavanjem dobre laboratorijske prakse, vanjske kontrole, koje nisu isporučene u kompletu, trebaju se, prema potrebi, upotrebljavati u skladu sa zahtjevima lokalnih i državnih organizacija za akreditaciju.

15 Tumačenje rezultata

Sustav instrumenta GeneXpert automatski tumači rezultate na temelju izmjerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama za izračun te se ti rezultati prikazuju u prozoru Prikaz rezultata (View Results) (pogledajte Slika 3 do Slika 8). Mogući rezultati prikazani su u Tablica 1.

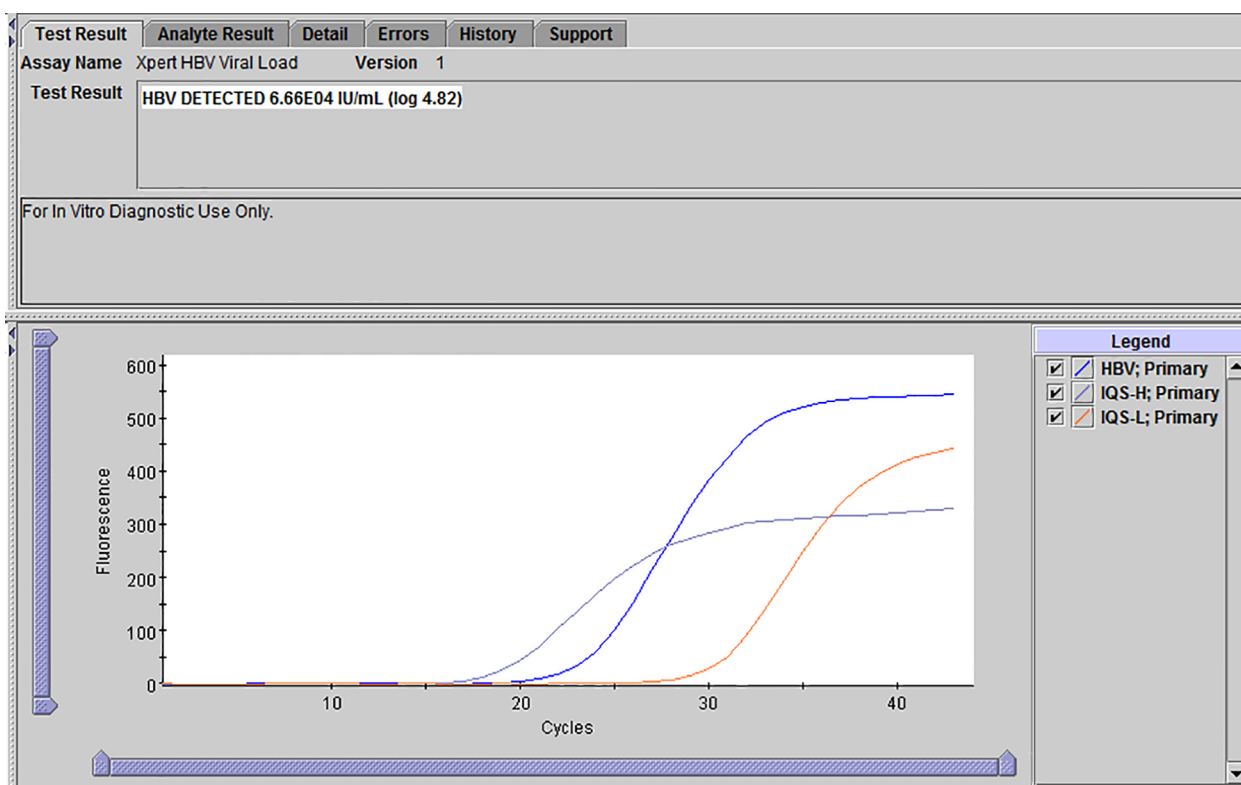
Tablica 1. Rezultati i tumačenje testa Xpert HBV VL

| Rezultat | Tumačenje |
|--|---|
| HBV OTKRIVEN (HBV DETECTED) IU/ml (log X.XX) Pogledajte Slika 3. | DNK virusa HBV otkriven je pri XX IU/ml (log X.XX). <ul style="list-style-type: none"> • DNK virusa HBV ima titar unutar kvantitativnog raspona testa (10 – 1,00E09 IU/ml). • IQS-H i IQS-L: ZADOVOLJAVA (PASS). • Provjera sonde – ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. |
| HBV OTKRIVEN (HBV DETECTED) > 1,00E09 IU/ml Pogledajte Slika 4. | DNK virusa HBV otkriven je iznad kvantitativnog raspona testa. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H i IQS-L: ZADOVOLJAVA (PASS). • Provjera sonde – ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. |
| HBV OTKRIVEN (HBV DETECTED) < 10 IU/ml Pogledajte Slika 5. | DNK virusa HBV otkriven je ispod kvantitativnog raspona testa. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H i IQS-L: ZADOVOLJAVA (PASS). • Provjera sonde – ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. |
| HBV NIJE OTKRIVEN (HBV NOT DETECTED) Pogledajte Slika 6. | DNK virusa HBV nije otkriven. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H i IQS-L: ZADOVOLJAVA (PASS). • Provjera sonde – ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. |
| NEVAŽEĆI (INVALID) Pogledajte Slika 7. | Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost DNK virusa HBV. Ponovite test prema uputama u Odjeljak 16.2. Postupak ponovnog testiranja. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H i/ili IQS-L: NEUSPJEŠAN (FAIL); vrijednosti praga ciklusa (Ct) nisu unutar valjanog raspona. • Provjera sonde – ZADOVOLJAVA (PASS); svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju. |

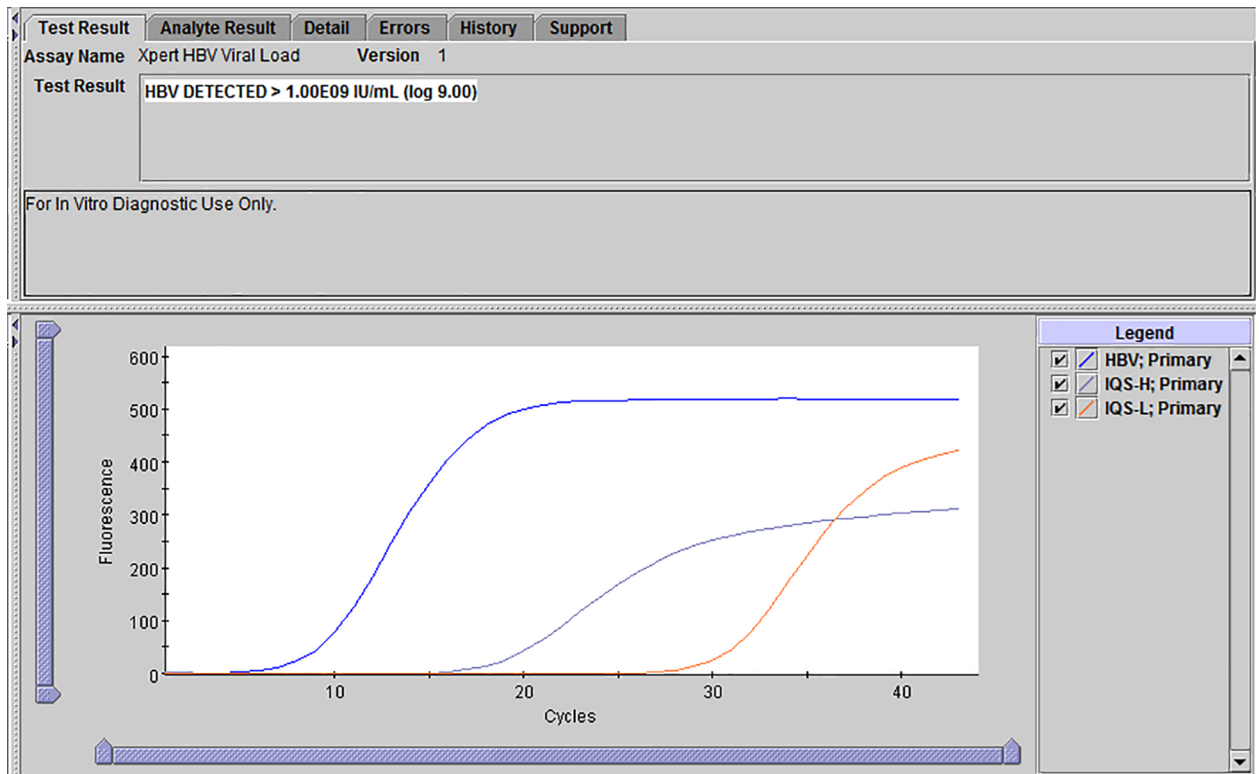
| Rezultat | Tumačenje |
|--|---|
| POGREŠKA (ERROR) Pogledajte Slika 8. | Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost DNK virusa HBV. Ponovite test prema uputama u Odjeljak 16.2. Postupak ponovnog testiranja. <ul style="list-style-type: none"> • Provjera sonde – NEUSPJEŠNA* (FAIL); svi ili jedan od rezultata provjere sonde nije uspio. * Ako je provjera sonde zadovoljila, pogrešku je uzrokovalo ograničenje maksimalnog tlaka koje je premašilo valjani raspon ili kvar komponente sustava. |
| NEMA REZULTATA (NO RESULT) | Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost DNK virusa HBV. Ponovite test prema uputama u Odjeljak 16.2. Postupak ponovnog testiranja. Poruka NEMA REZULTATA (NO RESULT) ukazuje na to da je prikupljeno nedovoljno podataka. Na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku. |

Bilješka

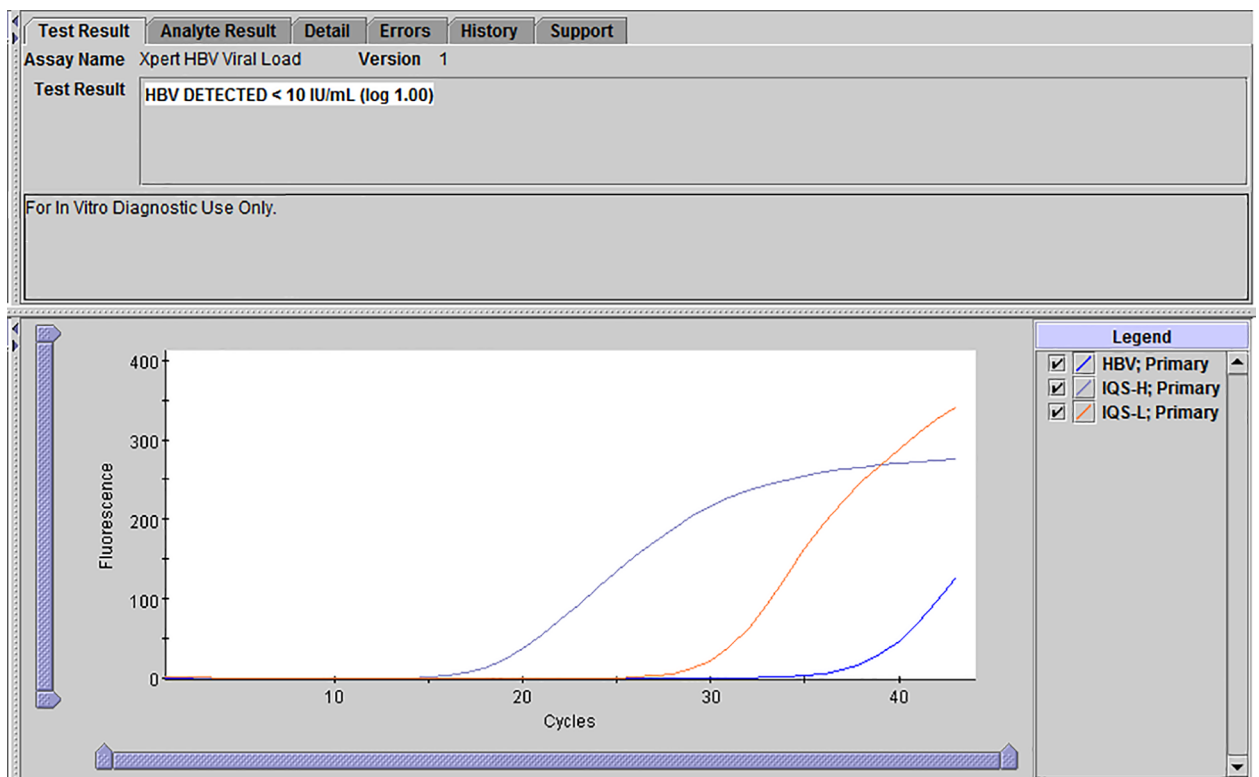
Snimke zaslona testa navedene su samo za primjer. Broj verzije može se razlikovati od snimki zaslona prikazanih u ovim uputama za upotrebu.



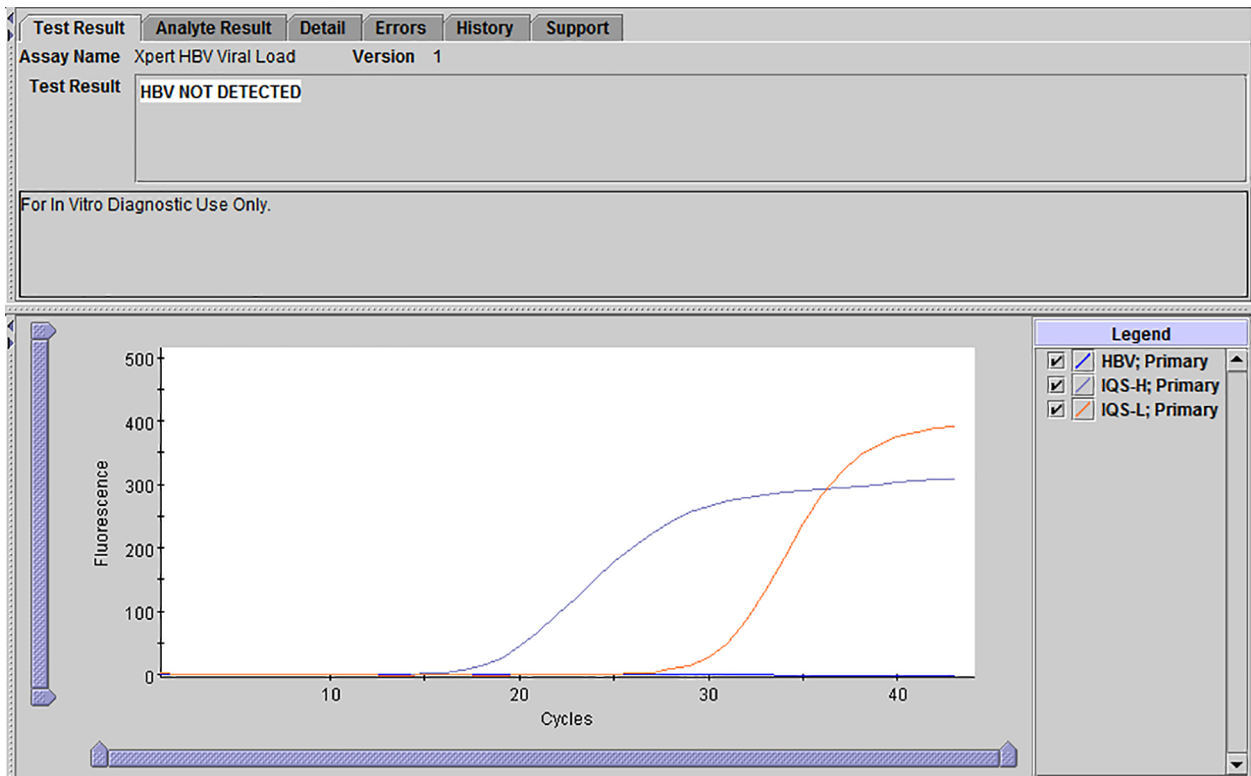
Slika 3. Rezultat: HBV otkriven i kvantificiran



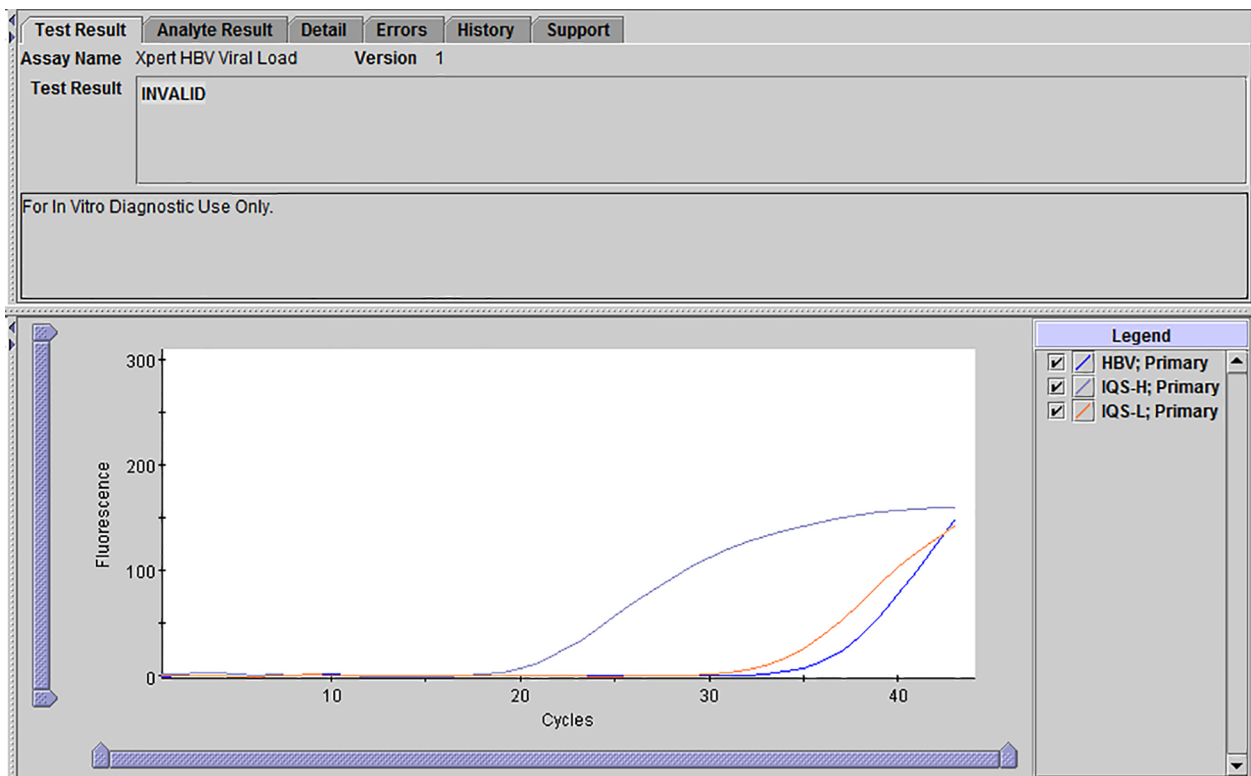
Slika 4. Rezultat: HBV otkriven, no titar je iznad kvantitativnog raspona testa



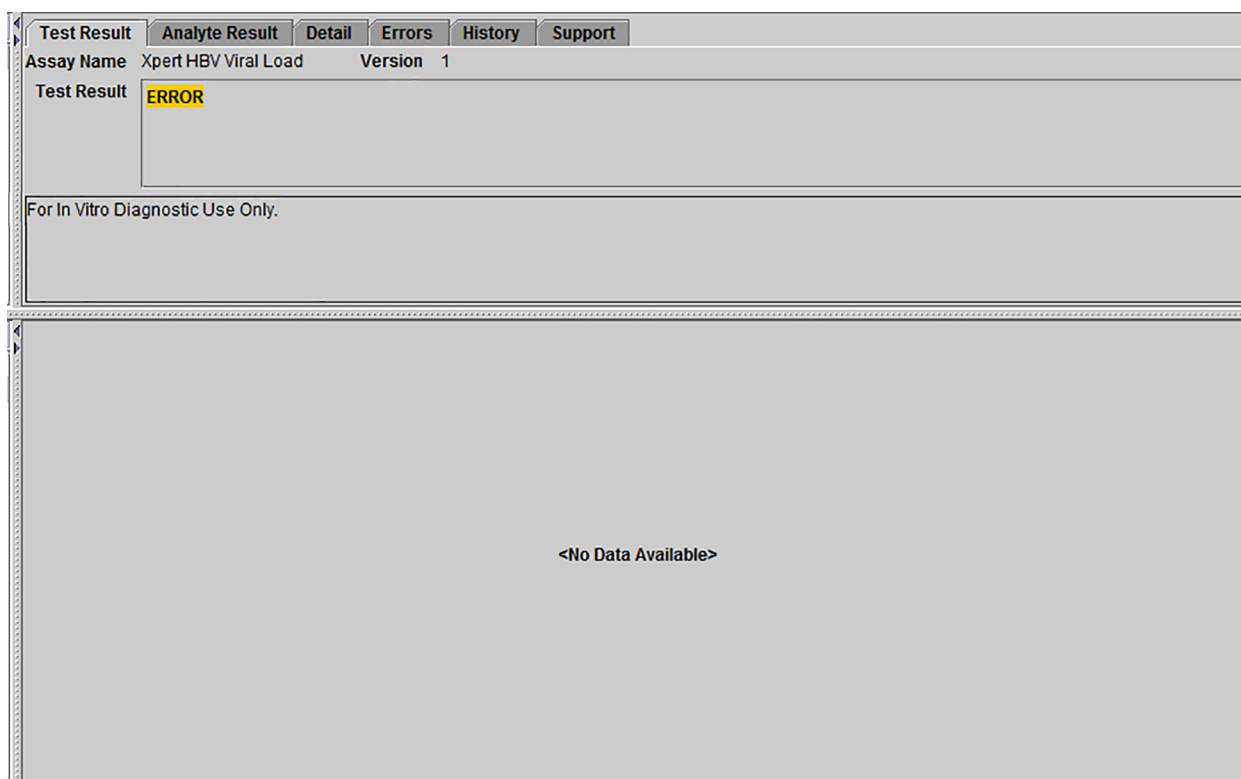
Slika 5. Rezultat: HBV otkriven, no titar je ispod kvantitativnog raspona testa



Slika 6. Rezultat: HBV nije otkriven (HBV Not Detected)



Slika 7. Rezultat: Nevažeci rezultat



Slika 8. Rezultat: Pogreška

16 Ponovno testiranje

16.1 Razlozi za ponavljanje testa

U slučaju javljanja nekih od rezultata testa navedenih u nastavku ponovite test prema uputama u Odjeljak 16.2. Postupak ponovnog testiranja.

- **NEVAŽEĆI (INVALID)** rezultat označava jedno ili više od sljedećih slučajeva:
 - Ct vrijednosti za IQS-H i/ili IQS-L nisu unutar valjanog raspona.
 - Uzorak nije ispravno obrađen ili je PCR bio spriječen.
- Rezultat **POGREŠKA (ERROR)** označava da je test prekinut. Mogući uzroci uključuju: dodan je nedovoljan volumen uzorka, reakcijska epruveta nije pravilno napunjena, uočen je problem s cjelovitosti sonde reagensa ili je prekoračena maksimalna granica tlaka.
- Poruka **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** ukazuje na to da je prikupljeno nedovoljno podataka. Na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku ili je došlo do nestanka napajanja.

16.2 Postupak ponovnog testiranja

Ako je rezultat testa **NEVAŽEĆI (INVALID)**, **POGREŠKA (ERROR)** ili **NEMA REZULTATA (NO RESULT)**, upotrijebite novi uložak za ponovno testiranje tog uzorka (nemojte ponovno upotrebljavati uložak).

1. Izvadite novi uložak iz kompleta.
2. Slijedite postupke u Odjeljak 12. Postupak, uključujući Odjeljak 12.2. Priprema uložka i Odjeljak 12.3. Pokretanje testa.

17 Ograničenja

- Preporučuje se dobra laboratorijska praksa i promjena rukavica između rukovanja uzorcima radi izbjegavanja kontaminacije uzoraka ili reagensa.
- Rijetke mutacije unutar ciljnog područja testa Xpert HBV VL mogu utjecati na vezivanje početnice ili sonde te dovesti do premale količine ili nemogućnosti otkrivanja virusa.
- Ovaj je test potvrđen samo za upotrebu sa serumom i EDTA plazmom. Testiranje drugih vrsta uzoraka može dovesti do pogrešnih rezultata.
- Negativan rezultat testa ne isključuje infekciju virusom HBV. Test Xpert HBV VL stoga se ne smije upotrebljavati kao dijagnostički test za potvrdu prisutnosti infekcije virusom HBV.

18 Karakteristike učinkovitosti

18.1 Granica otkrivanja

Granica otkrivanja (LoD) testa Xpert HBV VL određena je za genotip A virusa HBV testiranjem serijskih razrjeđivanja četvrtog međunarodnog standarda Svjetske zdravstvene organizacije za DNK virusa HBV (NIBSC oznaka 10/266)⁴ razrijeđenih u HBV-negativnoj EDTA plazmi i serumu. Paneli od šest razina koncentracija i negativan uzorak testirani su pomoću četiri ili tri serije reagensa za panele za EDTA plazmu, odnosno serum. Svaki član panela testiran je tijekom tri dana uz 24 ponavljanja po seriji reagensa. Testirano je ukupno 96 ponavljanja po članu panela za plazmu i 72 ponavljanja po članu panela za serum.

Rezultati za EDTA plazmu i serum prikazani su u Tablica 2. Ispitivanje je pokazalo da je test Xpert HBV VL otkrio DNK virusa HBV za međunarodni standard Svjetske zdravstvene organizacije u koncentraciji od 3,20 IU/ml u EDTA plazmi i koncentraciji od 5,99 IU/ml u serumu s postotkom pozitivnosti od 95 %, kako je određeno regresijom PROBIT.

Tablica 2. Granica otkrivanja za test Xpert HBV VL upotrebom četvrtog međunarodnog standarda Svjetske zdravstvene organizacije za HBV

| Genotip | Matrica | Nominalna koncentracija HBV-a (IU/ml) | Broj valjanih ponavljanja | Broj pozitivnih slučajeva | Postotak pozitivnosti (%) | 95 % LoD-a analizom PROBIT (95 %-tni interval pouzdanosti) |
|---------|---------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--|
| A | Plazma | 10 | 95 | 95 | 100 | 3,20 IU/ml (2,79 – 3,60 IU/ml) |
| | | 5 | 96 | 94 | 98 | |
| | | 2,5 | 96 | 82 | 85 | |
| | | 1,25 | 96 | 62 | 65 | |
| | | 0,625 | 96 | 41 | 43 | |
| | | 0 | 96 | 0 | 0 | |
| A | Serum | 10 | 72 | 70 | 97 | 5,99 IU/ml (5,13 – 6,86 IU/ml) |
| | | 5 | 72 | 63 | 88 | |
| | | 2,5 | 72 | 58 | 81 | |
| | | 1,25 | 72 | 37 | 51 | |
| | | 0,625 | 71 | 15 | 21 | |
| | | 0 | 72 | 0 | 0 | |

Granica otkrivanja za genotipove B do H virusa HBV određena je testiranjem šesteročlanih ili sedmeročlanih panela pripremljenih nabaddanjem uzoraka pozitivnih na HBV koji predstavljaju svaki genotip (genotipovi B do G iz Međunarodnog referentnog panela Svjetske zdravstvene organizacije, PEI oznaka: 5086/08 i klinički uzorak genotipa H) u HBV-negativnu EDTA plazmu. Svaki je član panela testiran tijekom tri dana pomoću tri serije reagensa za ukupno 24 ponavljanja po članu. Rezultati su predstavljani ovdje: Tablica 3.

Tablica 3. Granica otkrivanja za genotipove B do H virusa HBV u EDTA plazmi

| Genotip | 95 % LoD prema analizi PROBIT (IU/ml) | 95 %-tni interval pouzdanosti (IU/ml) |
|---------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| B | 1,34 | 0,98 – 1,69 |
| C | 1,63 | 1,23 – 2,03 |
| D | 3,96 | 3,01 – 4,92 |
| E | 3,77 | 2,76 – 4,78 |
| F | 2,39 | 1,82 – 2,96 |
| G | 1,21 | 0,95 – 1,47 |
| H | 3,84 | 2,91 – 4,77 |

Granica otkrivanja za genotipove B do H virusa HBV potvrđena je u serumu u skladu s dokumentom EP17-A2¹⁰ Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (CLSI) pomoću 24 ponavljanja. Viša koncentracija testirana je ako nije postignuta stopa pozitivnosti od > 85 %. Pogledajte Tablica 4 za rezultate.

Tablica 4. Provjera LoD-a za genotipove B do H u serumu

| Genotip | Nominalna koncentracija HBV-a (IU/ml) | Postotak pozitivnosti (%) |
|---------|---------------------------------------|---------------------------|
| B | 1,34 | 88 |
| C | 3,25 | 96 |
| D | 3,96 | 96 |
| E | 3,77 | 96 |
| F | 2,39 | 92 |
| G | 1,21 | 88 |
| H | 3,84 | 100 |

Učinkovitost testa Xpert HBV VL procijenjena je i pomoću precore mutanta testiranjem sekvenciranog kliničkog uzorka HBV-a, uključujući dvije precore mutacije (C1858T i G1896A) te dvije mutacije promotora bazalne jezgre (A1762T i G1764A), razrijeđene u koncentraciju od 10 IU/ml u EDTA plazmi i serumu pomoću jedne serije reagensa. Postignuta je stopa pozitivnosti od 100 % za svako od 24 ponavljanja testiranih u svakoj matrici.

18.2 Donja granica kvantifikacije (LLOQ)

Donja granica kvantifikacije (LLOQ) definira se kao najniža koncentracija DNK virusa HBV koja se može odrediti s prihvatljivom preciznosti i istinitosti te se određuje upotrebom ukupne analitičke pogreške (TAE) i pristupom koji se temelji na razlici između dvaju mjerenja. LLOQ je procijenjen pomoću četiri neovisna uzorka koja predstavljaju genotipove A do D virusa HBV u EDTA plazmi u blizini granice otkrivanja testom. Svaki je uzorak testiran pomoću četiri serije reagensa uz 8 – 24 ponavljanja po seriji. TAE je procijenjen pomoću modela Westgard u skladu sa smjernicom EP17-A2¹⁰ CLSI-ja uz kriterij $[(\text{apsolutno odstupanje}) + 2 \text{ SD-a} \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$. Razlika između dvaju mjernih pristupa procijenjena je kriterijem $[(2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{SD}) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$.

LLOQ analize za svaki uzorak predstavljene su u Tablica 5.

Tablica 5. Određivanje LLOQ-a za test Xpert HBV VL

| Genotip virusa HBV | Serija | N | Koncentracija virusa HBV (log ₁₀ IU/ml) | | Odstupanje | Ukupni SD | Ukupna analitička pogreška ^a | Pristup dvaju mjerenja ^b |
|--------------------|--------|----|--|--------|------------|-----------|---|-------------------------------------|
| | | | Očekivano | Uočeno | | | | |
| A | 1 | 24 | 1,00 | 1,02 | 0,02 | 0,20 | 0,42 | 0,57 |
| | 2 | 24 | 1,00 | 1,05 | 0,05 | 0,16 | 0,37 | 0,45 |
| | 3 | 24 | 1,00 | 0,94 | - 0,06 | 0,20 | 0,46 | 0,57 |
| | 4 | 23 | 1,00 | 1,02 | 0,02 | 0,14 | 0,30 | 0,40 |
| B | 1 | 16 | 1,00 | 1,18 | 0,18 | 0,11 | 0,39 | 0,30 |
| | 2 | 24 | 1,00 | 1,18 | 0,18 | 0,17 | 0,53 | 0,49 |
| | 3 | 8 | 1,00 | 1,17 | 0,17 | 0,19 | 0,54 | 0,53 |
| | 4 | 8 | 1,00 | 1,25 | 0,25 | 0,19 | 0,64 | 0,55 |
| C | 1 | 16 | 1,00 | 1,10 | 0,10 | 0,17 | 0,44 | 0,47 |
| | 2 | 24 | 1,00 | 1,11 | 0,11 | 0,22 | 0,55 | 0,61 |
| | 3 | 8 | 1,00 | 0,83 | - 0,17 | 0,24 | 0,65 | 0,68 |
| | 4 | 8 | 1,00 | 1,01 | 0,01 | 0,18 | 0,36 | 0,50 |
| D | 1 | 16 | 1,00 | 0,81 | - 0,19 | 0,28 | 0,74 | 0,78 |
| | 2 | 24 | 1,00 | 0,79 | - 0,21 | 0,27 | 0,75 | 0,76 |
| | 3 | 8 | 1,00 | 0,83 | - 0,14 | 0,14 | 0,42 | 0,39 |
| | 4 | 8 | 1,00 | 0,91 | - 0,09 | 0,11 | 0,31 | 0,32 |

^a TAE izračunata prema modelu Westgard gdje je $[TAE = |\text{odstupanje}| + (2 \times SD) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$ osiguravanjem da postoji 95 %-tna vjerojatnost da će mjerenje biti manje od $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ od stvarne vrijednosti.

^b Pristup dvaju mjerenja $[2 \times (\text{SQRT}(2) \times SD) \leq 1 \log_{10} \text{ IU/ml}]$ označava da se razlika manja od $1 \log_{10} \text{ IU/ml}$ može objasniti slučajnom mjernom pogreškom.

Rezultati pokazuju da test HBV VL može izmjeriti 10 IU/ml DNK virusa HBV s prihvatljivom istinitošću i preciznošću.

18.3 Preciznost/reproducibilnost

Preciznost/reproducibilnost testa Xpert HBV VL procijenjena je u K₂EDTA plazmi pomoću analize varijance (ANOVA) radi procjene ukupne varijance.

Ovo je ispitivanje bilo multicentrično (3 lokacije; 2 vanjske i 1 interna), slijepo ispitivanje za procjenu glavnih sastavnica varijance testa Xpert HBV VL pomoću osmočlanog panela koji se sastojao od osam članova pozitivnih na HBV. Članovi pozitivni na HBV pripremljeni su razrjeđivanjem dobro karakteriziranog HBV plazmida ili kliničkog uzorka pozitivnog na HBV u ljudsku EDTA plazmu. Dva korisnika, jedan s prethodnim iskustvom s postupkom PCR i jedan bez njega, na svakoj od tri lokacije ispitivanja, testirala su jedan panel u dva primjerka dvaput na dan (jednako osam ponavljanja po danu) tijekom šest dana testiranja za ukupno 144 ponavljanja po članu panela. Upotrijebljene su tri serije testa Xpert HBV VL, a svaka je serija predstavljala dva dana testiranja. Preciznost i reproducibilnost procijenjene su u skladu s dokumentima EP05-A3¹¹ i CLSI EP15-A3 CLSI-ja.¹²

Preciznost i reproducibilnost testa Xpert HBV VL procijenjena je pomoću ugniježđenih modela ANOVA prema lokaciji/instrumentu, seriji, danu, korisniku/pokretanju testa i unutar pokretanja testa. Izračunato je standardno odstupanje i postotak varijabilnosti zbog svake sastavnice log₁₀ transformiranih koncentracija virusa HBV kako je prikazano u Tablica 6.

Tablica 6. Preciznost/reproducibilnost testa Xpert HBV VL

| Koncentracija DNK virusa HBV (Log ₁₀ IU/ml) | | | Doprinos SD-u ukupne varijance (CV %) | | | | | | | | | | Ukupna preciznost | |
|--|-------------------|-----|---------------------------------------|------------------|--------|------------------|--------|------------------|---------------------------|------------------|-------------------------|------------------|-------------------|---------------------|
| | | | Lokacija/instrument | | Serija | | Dan | | Korisnik/pokretanje testa | | Unutar pokretanja testa | | | |
| Očekivano | Uočeno | N | SD | (%) ^a | SD | (%) ^a | SD | (%) ^a | SD | (%) ^a | SD | (%) ^a | SD | CV (%) ^b |
| 9,00 | 9,13 ^c | 144 | < 0,01 | < 0,01 | 0,04 | 23,4 | < 0,01 | < 0,01 | 0,02 | 4,9 | 0,07 | 71,7 | 0,08 | 19,7 |
| 8,00 | 8,17 | 144 | < 0,01 | < 0,01 | 0,04 | 26,7 | < 0,01 | < 0,01 | 0,02 | 5,4 | 0,06 | 67,9 | 0,07 | 16,9 |
| 7,00 | 7,15 | 144 | 0,01 | 2,2 | 0,03 | 12,2 | 0,01 | 3,9 | < 0,01 | < 0,01 | 0,07 | 81,8 | 0,07 | 16,8 |
| 6,00 | 6,18 | 144 | < 0,01 | < 0,01 | 0,04 | 32,1 | 0,01 | 4,3 | < 0,01 | < 0,01 | 0,05 | 63,6 | 0,06 | 14,7 |
| 4,70 | 4,87 | 144 | 0,02 | 4,5 | 0,03 | 15,3 | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 | 0,07 | 80,2 | 0,07 | 17,1 |
| 3,00 | 3,19 | 144 | < 0,01 | < 0,01 | 0,03 | 28,8 | < 0,01 | < 0,01 | 0,02 | 11,5 | 0,04 | 59,7 | 0,06 | 13,2 |
| 2,00 | 2,17 | 144 | < 0,01 | < 0,01 | 0,02 | 8,6 | < 0,01 | < 0,01 | 0,01 | 1,0 | 0,08 | 90,5 | 0,08 | 19,0 |
| 1,00 | 1,13 | 144 | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 | 0,05 | 11,0 | 0,01 | 0,3 | 0,15 | 88,8 | 0,16 | 37,7 |

^a (%) je doprinos sastavnice varijance ukupnoj varijanci

^b

$$\text{Lognormal CV}(\%) = 100 \cdot \sqrt{10^{(\ln(10) \cdot \sigma_{\log_{10} \text{data}}^2)} - 1}$$

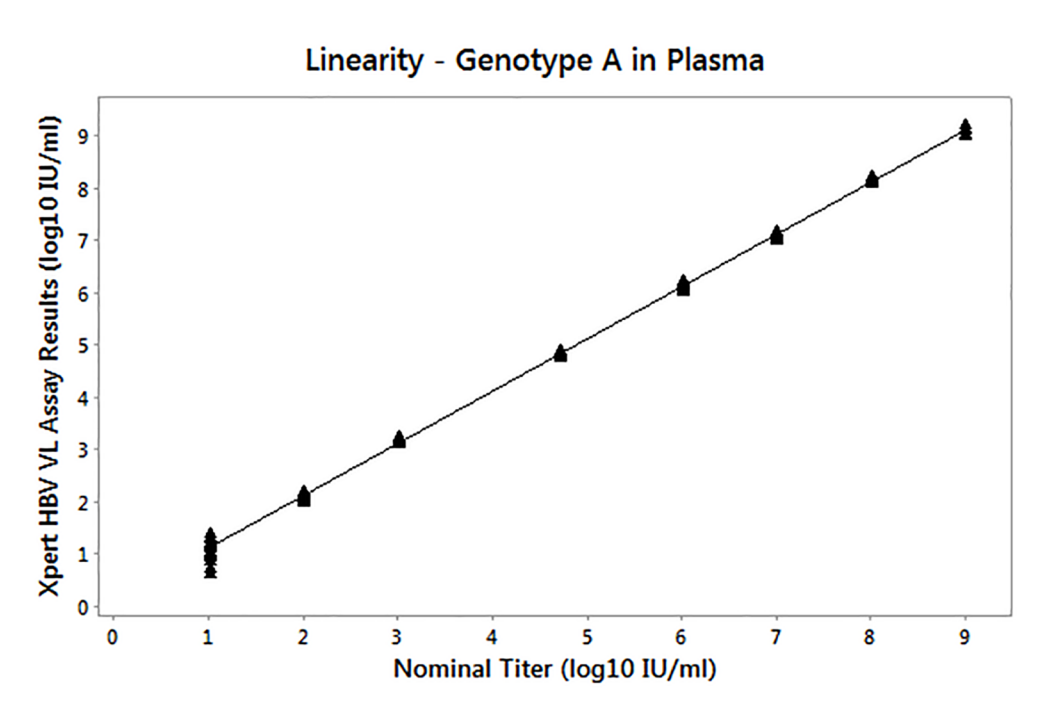
„CV“ je log-normalni CV, koji se dobiva pomoću formule:

^c Uočena je vrijednost iznad kvantitativnog raspona testa Xpert HBV VL.

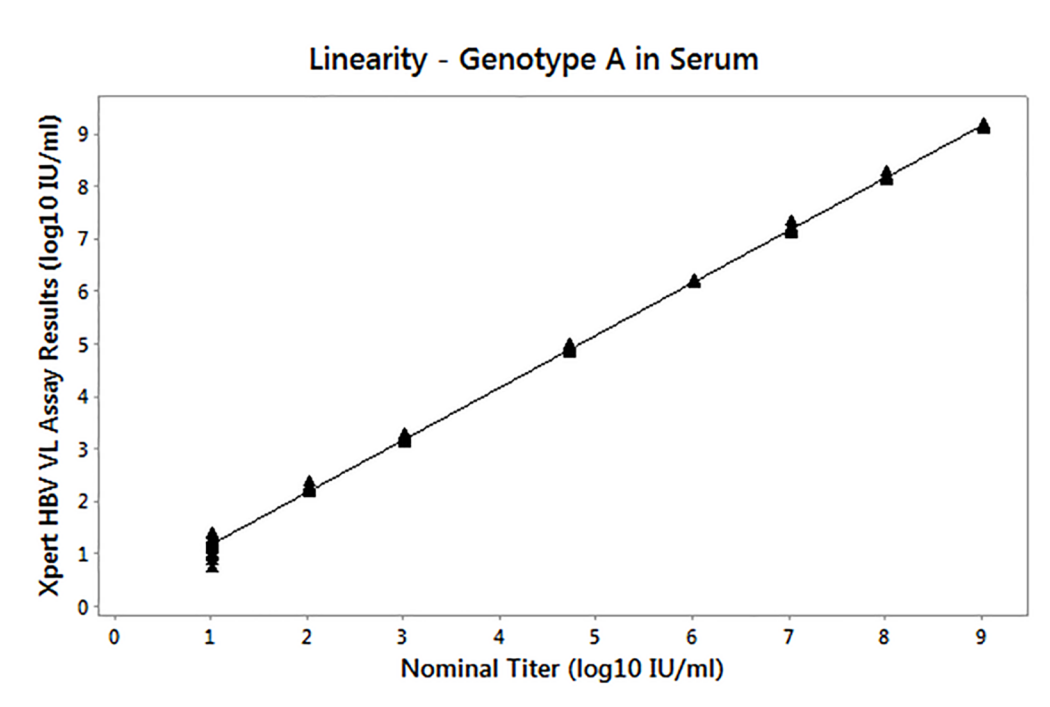
18.4 Linearni raspon

Genotip A

Linearni raspon testa Xpert HBV VL određen je analizom osmočlanog panela koji je obuhvaćao raspon koncentracije HBV-a od 1,00 do 9,00 log₁₀ IU/ml. Paneli su pripremljeni nabađanjem kliničkog uzorka genotipa A virusa HBV ili bujona DNK plazmida s HBV-om višeg titra u HBV negativnu EDTA plazmu i serum. Svaki je član panela analiziran u osam ponavljanja po seriji reagensa, osim najnižih razrjeđivanja koja su analizirana u šesnaest ponavljanja po seriji reagensa pomoću dviju serija reagensa. Rezultati su predstavljeni u Slika 9 i Slika 10.



Slika 9. Linearnost za test Xpert HBV VL u EDTA plazmi



Slika 10. Linearnost za test Xpert HBV VL u EDTA serumu

Genotipovi B – H

Da bi se potvrdila linearnost, paneli razrjeđivanja koji su predstavljali genotipove B do H virusa HBV pripremljeni su kako bi obuhvatili što širi mjerni raspon razrjeđivanjem kliničkog uzorka koji predstavlja svaki genotip u HBV negativnoj EDTA plazmi. Članovi panela analizirani su s istim brojem ponavljanja kao i za genotip A virusa HBV pomoću jedne serije reagensa.

Linearnost je dokazana u skladu sa smjernicom EP06-A¹³ CLSI-ja za genotip A – H uz $R^2 > 0,99$. Test Xpert HBV VL linearan je u rasponu 1,00 – 9,00 log₁₀ IU/ml za genotip A i u rasponu testiranom za genotipove B do H (pogledajte Tablica 7).

Tablica 7. Linearnost testa Xpert HBV VL prema genotipu

| Genotip | Jednadžba linearne regresije | R ² | Raspon testiranog titra (log ₁₀ IU/ml) |
|------------|------------------------------|----------------|---|
| A (plazma) | $y = 1,005x + 0,093$ | 0,999 | 1,00 – 9,00 |
| A (serum) | $y = 1,000x + 0,167$ | 0,999 | 1,00 – 9,00 |
| B | $y = 0,998x - 0,027$ | 0,995 | 1,00 – 6,83 |
| C | $y = 0,998x - 0,119$ | 0,998 | 1,00 – 7,69 |
| D | $y = 0,993x + 0,101$ | 0,998 | 1,00 – 7,41 |
| E | $y = 1,010x - 0,149$ | 0,999 | 1,00 – 8,14 |
| F | $y = 0,994x - 0,068$ | 0,999 | 1,00 – 7,96 |
| G | $y = 0,990x + 0,538$ | 0,999 | 1,00 – 8,61 |
| H | $y = 0,991x + 0,122$ | 0,999 | 1,00 – 6,35 |

18.5 Analitička specifičnost (isključivost)

Analitička specifičnost testa Xpert HBV VL procijenjena je dodavanjem potencijalno križno reaktivnih organizama u koncentraciji od 1×10^6 CFU/ml za mikroorganizme ili 1×10^5 kopija/ml ili TCID₅₀/ml za viruse u HBV negativnu EDTA plazmu i EDTA plazmu koja sadržava otprilike 30 IU/ml referentnog materijala HBV-a (četvrti međunarodni standard Svjetske zdravstvene organizacije za HBV, NIBSC oznaka: 10/266)⁴. Testirani organizmi navedeni su u Tablica 8. Nijedan od testiranih mikroorganizama nije pokazao križnu reaktivnost niti je ometao kvantifikaciju testa Xpert HBV VL.

Tablica 8. Organizmi s analitičkom specifičnošću

| Virusi | Bakterije | Kvasci |
|------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| BK Humani poliomavirus | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | <i>Candida albicans</i> |
| Citomegalovirus | <i>Staphylococcus aureus</i> | |
| Epstein-Barrov virus | | |
| Virus hepatitisa A | | |
| Virus hepatitisa C | | |
| Herpes simplex virus 1 | | |
| Herpes simplex virus 2 | | |
| Humani herpes virus 6 | | |
| Humani herpes virus 8 | | |

18.6 Potencijalno ometajuće tvari

Procijenjena je osjetljivost testa Xpert HBV VL na interferenciju povišenim razinama endogenih tvari, markerima autoimune bolesti i lijekovima koji se propisuju bolesnicima zaraženima virusom NBV. Inhibicijski učinci procijenjeni su i u prisutnosti i u odsutnosti otprilike 30 IU/ml referentnog materijala DNK virusa HBV (četvrti međunarodni standard Svjetske zdravstvene organizacije za HBV, NIBSC oznaka: 10/266)⁴.

Pokazalo se da povišene razine endogenih tvari koje su navedene u Tablica 9 ne ometaju kvantifikaciju testa Xpert HBV VL s prosječnim \log_{10} titrom svakog uzorka pozitivnog na HBV koji je sadržavao potencijalno ometajuće tvari unutar $\pm 0,10 \log_{10}$ IU/ml od pozitivne kontrole. Negativni rezultati dobiveni su za sve uzorke bez HBV cilja, čime je prikazano da nije bilo učinka na specifičnost testa.

Endogene tvari

Tablica 9. Endogene tvari i testirana koncentracija

| Tvar | Testirana koncentracija |
|--------------|-------------------------|
| Albumin | 9 g/dl |
| Bilirubin | 20 mg/dl |
| Hemoglobin | 500 mg/dl |
| Ljudski DNK | 0,4 mg/dl |
| Trigliceridi | 3000 mg/dl |

Lijekovi

Pokazalo se da sastojci lijeka prikazani u Tablica 10 ne ometaju kvantifikaciju testa Xpert HBV VL niti ne utječu na specifičnost testa kad se testiraju na trostrukoj koncentraciji vršne razine plazme (C_{max}) u prisutnosti i odsutnosti DNK virusa HBV.

Tablica 10. Testirane skupine lijekova

| Skupina | Lijekovi |
|---------|--|
| 1 | Zidovudin, sakvinavir, klaritromicin, interferon-alfa-2b, ritonavir, ombitasvir, paritaprevir, dasabuvir, didanozin |
| 2 | Abakavir sulfat, fosamprenavir, peginterferon-alfa-2a, ribavirin, entekavir, adefovir dipivoksil |
| 3 | Tenofovir disoproksil fumarat, lamivudin, indinavir sulfat, ganciklovir, valganciklovir HCl, aciklovir, paroksetin, telbivudin |
| 4 | Stavudin, efavirenz, lopinavir, enfuvirtid, ciprofloksacin fluoksetin |
| 5 | Nevirapin, nelfinavir, azitromicin, valaciklovir, sertralin, tenofovir, alafenamid |

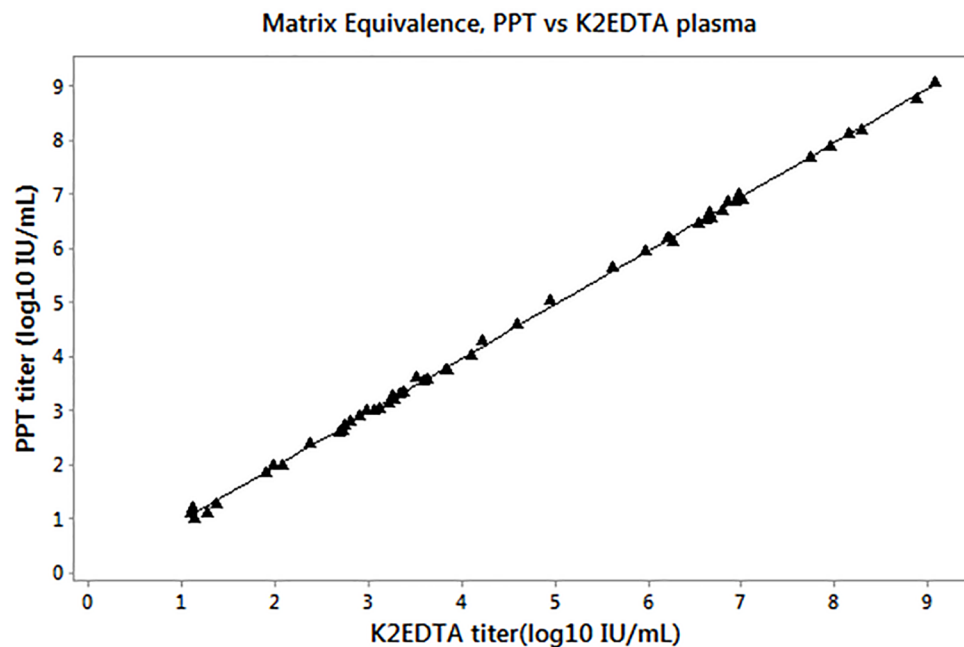
Markeri autoimune bolesti

Pokazalo se da testiranje uzoraka K_2 EDTA plazme od pet pojedinaca pozitivnih na svaki od markera autoimune bolesti; sistemski eritemski lupus (SLE), anti-nuklearno protutijelo (ANA) ili reumatoidni faktor (RF) ne ometa učinkovitost testa Xpert HBV VL. Prosječne \log_{10} koncentracije uzoraka nabodenih DNK-om virusa HBV bile su unutar $\pm 0,10 \log_{10}$ IU/ml od pozitivne kontrole. Negativni rezultati dobiveni su za sve uzorke bez HBV cilja, čime je prikazano da nije bilo učinka na specifičnost testa.

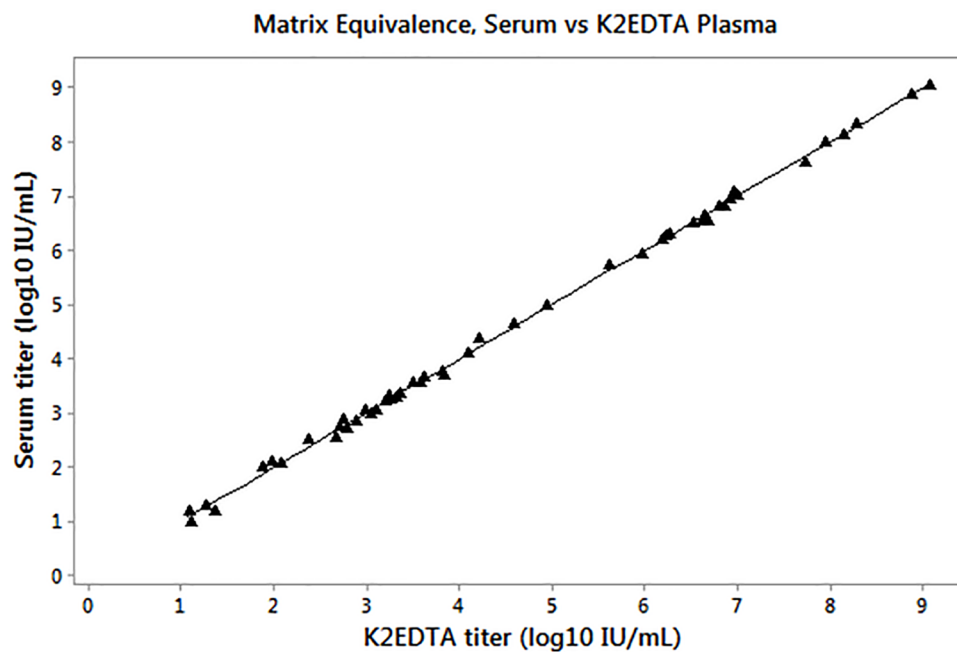
18.7 Istovrijednost matrice (K_2 EDTA plazma, PPT-EDTA i serum)

Istovrijednost matrice za test Xpert HBV VL provedena je s 32 odgovarajuća klinička uzorka pozitivna na HBV i 23 odgovarajuća klinička uzorka negativna na HBV prikupljena u epruvete za prikupljanje K_2 EDTA plazme, PPT-EDTA plazme i seruma. Dvadeset i tri odgovarajuća klinička uzorka negativna na HBV nabodena su materijalom pozitivnim na HBV, iz kliničkih uzoraka koji predstavljaju genotipove B do G virusa HBV i DNK plazmid koji izražava ciljnu sekvencu genotipa A virusa HBV, s titrima u cjelokupnom linearnom rasponu.

Istovrijednost matrice dokazana je u testiranim uzorcima kako je prikazano u Slika 11 i Slika 12.



Slika 11. Grafikon linearne regresije za PPT-EDTA plazmu u usporedbi s K₂EDTA plazmom



Slika 12. Grafikon linearne regresije za serum u usporedbi s K₂EDTA plazmom

Rezultati pokazuju da test Xpert HBV VL daje jednake rezultate u K₂-EDTA plazmi, PPT-EDTA plazmi i serumu za uzorke u rasponu od otprilike 1,0 – 9,0 log₁₀ IU/ml.

18.8 Kvar čitavog sustava

Učestalost kvarova čitavog sustava za test HBV VL određena je testiranjem 100 ponavljanja EDTA plazme nabodene četvrtim međunarodnim standardom Svjetske zdravstvene organizacije za DNK virusa HBV (NIBSC oznaka 10/266)⁴, uzorkom genotipa A. Nabodeni uzorci testirani su pri ciljnoj koncentraciji od otprilike 3 x LLOQ (30 IU/ml).

Rezultati tog ispitivanja pokazali su da su sva ponavljanja bila valjana i pozitivna na HBV cilj, što je dalo postotak kvara čitavog sustava od 0,0 %

18.9 Prenosivost kontaminacije

Testiran je viši titar uzorka pozitivnog na HBV ($> 1 \times 10^7$ IU/ml), nakon čega je odmah uslijedilo testiranje uzorka negativnog na HBV u istom modulu instrumenta GeneXpert. Taj je postupak ponovljen dvadeset (20) puta u dva modula. Brzina prijenosa za test Xpert HBV VL iznosila je 0 %.

19 Klinička učinkovitost

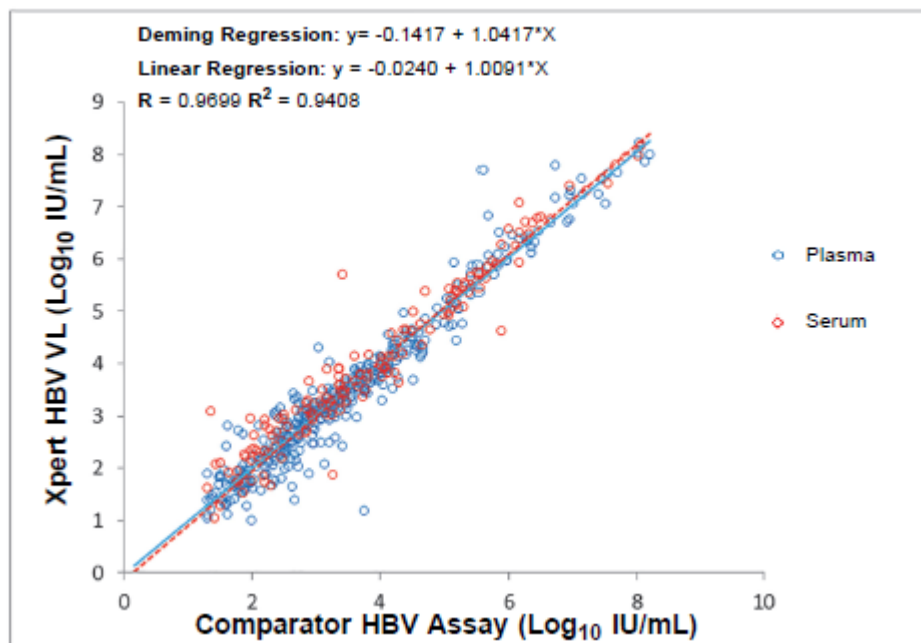
19.1 Specifičnost u normalnih zdravih darivatelja krvi

Specifičnost testa Xpert HBV VL procijenjena je pomoću 99 uzoraka seruma i 100 uzoraka EDTA plazme od HBV negativnih darivatelja krvi. Specifičnost testa Xpert HBV VL iznosila je 100,0 % [95 %-tni CI: 98,1 – 100,0 (199/199)].

19.2 Korelacija metode

Multicentrično ispitivanje provedeno je kako bi se procijenila učinkovitost testa Xpert HBV VL u usporedbi s metodom kvantitativnog komparatora DNK virusa HBV pomoću preostalih uzoraka seruma i EDTA plazme za standardno liječenje od pojedinaca za koje je poznato da su zaraženi HBV-om.

Od 876 prihvatljivih ispitanika, 351 (40,1 %) su bile žene, a 489 (55,8 %) muškarci. Prosječna dob iznosila je $47,2 \pm 15,9$ godina, uz raspon od 18 do 89 godina. Od tih 876 uzoraka, 560 je bilo unutar raspona kvantifikacije za test HBV VL i usporedni test. Rezultat analiza regresije Deming i jednostavne linearne regresije prikazan je u Slika 13.



Slika 13. Korelacija testa Xpert HBV VL u odnosu na usporednu metodu pomoću uzoraka seruma i EDTA plazme

20 Reference

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. ožujak 2015. Pristupljeno 14. ožujka 2018 u: <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepat.* 2012; 57:167-185. Dostupno na: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. travanj 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), pristupljeno 5. ožujka 2018. na <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Dokument M29 (proučite najnovije izdanje).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Pristupljeno 20. travnja 2018. u http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
8. UREDBA (EZ) br. 1272/2008 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 16. prosinca 2008. o razvrstavanju, označivanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Popisa oznaka obavijesti, Direktive 67/548/EEZ i Direktive 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures*; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.

21 Lokacije glavnih sjedišta tvrtke Cepheid

Glavno sjedište

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
Telefaks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Europsko sjedište

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300
Telefaks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Tehnička pomoć

Prije nego se obratite Tehničkoj podršci tvrtke Cepheid, prikupite sljedeće podatke:

- Naziv proizvoda
- Broj serije
- Serijski broj instrumenta
- Poruke o greškama (ako postoje)
- Verzija softvera i, ako je primjenjivo, broj servisne oznake računala

Informacije za kontakt

Sjedinjene Države

Telefon: + 1 888 838 3222

E-pošta: techsupport@cepheid.com









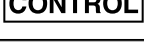








Francuska

Telefon: + 33 563 825 319

E-pošta: support@cepheideurope.com

Podaci o kontaktu za sve urede tvrtke Cepheid za tehničku podršku dostupni su na našoj internetskoj stranici:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tablica simbola

| Simbol | Značenje |
|---|---|
|  | Kataloški broj |
|  | <i>In vitro</i> dijagnostički medicinski proizvod |
|  | Ne upotrebljavati višekratno |
|  | Kod serije |
|  | Proučite upute za upotrebu |
|  | Proizvođač |
|  | Država proizvodnje |
|  | Sadrži dovoljno za <i>n</i> testova |
|  | Kontrola |
|  | Rok valjanosti |
|  | Oznaka CE – sukladnost s europskim propisima |
|  | Ograničenje temperature |
|  | Biološki rizici |
|  | Oprez |
|  | Upozorenje |
|  | Ovlašteni predstavnik u Švicarskoj |
|  | uvoznik |



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland

